

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年 12 月 13 日 (13.12.2001)

PCT

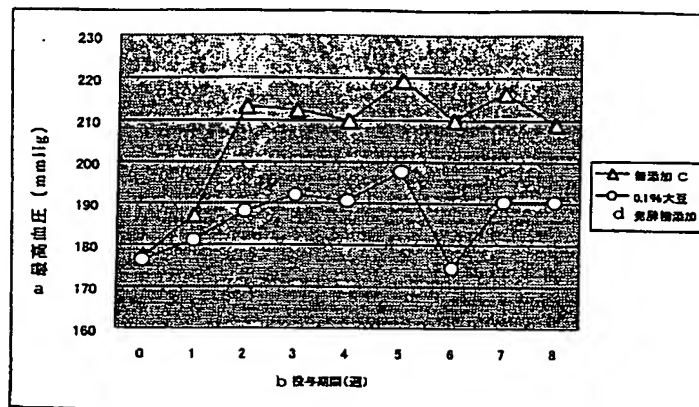
(10) 国際公開番号
WO 01/93696 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A23L 1/20, 1/202, 1/29 (72) 発明者; および
(21) 国際出願番号: PCT/JP01/04640 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 青木秀之 (AOKI, Hideyuki) [JP/JP]. 宇田一代 (UDA, Ichiyo) [JP/JP]. 宮本紀子 (MIYAMOTO, Noriko) [JP/JP]. 田上恵子 (TAGAMI, Keiko) [JP/JP]. 古谷祐治 (FURUYA, Yuji) [JP/JP]. 万倉三正 (MANKURA, Mitsumasa) [JP/JP]; 〒721-0956 広島県福山市箕沖町95番地の7 池田食研株式会社内 Hiroshima (JP).
(22) 国際出願日: 2001 年 6 月 1 日 (01.06.2001)
(25) 国際出願の言語: 日本語
(26) 国際公開の言語: 日本語 (74) 代理人: 和田成則 (WADA, Shigenori); 〒101-0047 東京都千代田区内神田一丁目15番16号 東光ビル Tokyo (JP).
(30) 優先権データ:
特願2000-165351 2000 年 6 月 2 日 (02.06.2000) JP
特願2000-292622 2000 年 9 月 26 日 (26.09.2000) JP (81) 指定国 (国内): ID, JP, KR, US.
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 池田食研株式会社 (IKEDA FOOD RESEARCH CO., LTD.) [JP/JP]; 〒721-0956 広島県福山市箕沖町95番地の7 Hiroshima (JP). (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
添付公開書類:
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING FERMENTED FOODS RICH IN γ -AMINOBUTYRIC ACID AND FREE AMINO ACIDS

(54) 発明の名称: γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有発酵食品の製造方法



a...MAXIMUM BLOOD PRESSURE (mmHg)
b...ADMINISTRATION TIME (WEEKS)
c...NONE
d...CONTAINING 0.1% OF FERMENTED SOYBEAN PRODUCT

(57) Abstract: Fermented soybean products containing γ -aminobutyric acid at a high concentration are produced by fermenting soybean with the use of Tempe molds. Further, fermented soybean products containing γ -aminobutyric acid and free amino acids at high concentrations are produced by fermenting soybean with the use of Tempe molds and treating anaerobically. Furthermore, fermented cereal products containing γ -aminobutyric acid and free amino acids at high concentrations are produced by fermenting cereals with the use of Koji molds and treating anaerobically. As the Tempe molds or Koji molds as described above, use can be preferably made of molds belonging to the genus *Rhizopus* such as *R. oligosporus* and *R. oryzae*.

[続葉有]

WO 01/93696 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

テンベ菌により大豆を発酵することにより、 γ -アミノ酪酸が高濃度に含有する大豆発酵食品を生産する。

また、テンベ菌により大豆を発酵、嫌気処理することにより、 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を高濃度に含有する大豆発酵食品を製造する。

また、麴菌により穀物を発酵、嫌気処理することにより、 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を高濃度に含有する穀物発酵食品を製造する。

なお、上記テンベ菌あるいは上記麴菌としては、*Rhizopus* 属の *Rhizopus oligosporus*、*Rhizopus oryzae* 等が好適に使用できる。

明 細 書

γ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有発酵食品の製造方法

技術分野

5

本発明に係わる第1の発明は、γ-アミノ酪酸高含有大豆発酵食品の製造方法に関し、詳しくはテンペ菌の Rhizopus 属により大豆を発酵することによりγ-アミノ酪酸を高濃度に含有し、且つ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も併用できるγ-アミノ酪酸高含有大豆発酵食品の製造方法に関する。

また、本発明に係わる第2の発明は、γ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品及びその製造方法に関し、詳しくはテンペ菌の Rhizopus 属により大豆を発酵後、嫌気処理することによりγ-アミノ酪酸等の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、ペプチド、抗酸化成分、ビタミン類、ミネラル、イソフラボン、アンジオテンシン変換酵素阻害物質等の有効成分をも併有し、さらに血圧上昇抑制効果を有するγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品及びその製造方法に関する。

また、本発明に係わる第3の発明は、γ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法に関し、詳しくは麹菌により穀物を発酵、及び、その後嫌気処理することによりγ

- アミノ酪酸、バリン、イソロイシン、リジン等の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、穀物由来のビタミン類、アントシアニン、セサミン、イソフラボン、大豆サポニン、フィチン酸、食物繊維、ミネラル、抗酸化成分、
5 及び、穀物発酵産物由来の蛋白質分解物、ペプチド、抗酸化成分等の有効成分も併有するγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法に関する。

背景技術

10

- アミノ酸は、蛋白質の基本的構成成分であり、生体内の主な役割として、蛋白質、ホルモンの原料などの役割があるが、また、アミノ酸は、個々のアミノ酸により、甘味、旨味等の味を呈することから、アミノ酸が味に関し、非常に重要な役割を果たしていることが知られている。更に、アミノ酸は、
15 各々固有の薬理作用を有しており、例えば、バリン、イソロイシンの筋肉、肝機能強化作用、リジンの食欲増進、カルシウム吸収促進作用等が知られている。

- また、最近特に注目されているアミノ酸としてγ-アミノ酪酸があり、
20 血圧上昇抑制効果を初め、以下のような作用効果があることから、高血圧症予防等のための健康食品素材として広く利用されている。

(1) 血圧上昇抑制効果

(2) 中性脂質低下作用、肥満防止効果

(3) 精神安定作用、更年期障害の改善

(4) 睡眠促進作用

(5) アルコール・アルデヒド代謝作用、消臭作用

更に、最近、大豆、胡麻、米等の穀物から、動脈硬化などの
5 生活習慣病を予防する効果がある種々の生理活性物質が見出
されている。例えば、大豆を使用した食品である味噌、納豆、
豆腐などは、伝統的に日常食されている食材であるが、大豆が
有している大豆蛋白、大豆イソフラボン、ビタミン類等に、骨
粗鬆症、心筋梗塞、動脈硬化などの生活習慣病を予防する効果
10 があることが明らかになり、大豆を使用した食品素材は、機能
性食材として注目されている。

このように、 γ -アミノ酪酸をはじめとしたアミノ酸は、様々
な薬理作用を有しており、フードサプリメントの素材として注
目されており、この様なアミノ酸に富んだ穀物素材は、穀物由
15 来の機能性、また血圧上昇抑制効果を有する γ -アミノ酪酸を
はじめとする各種アミノ酸の薬理機能、アミノ酸の味改変機能
を有しており、健康食品素材、機能性調味料素材として期待さ
れている。

ここで、従来においては、遊離アミノ酸の増加方法について、
20 大豆に関しては、味噌、納豆、テンペなどの大豆発酵食品にお
いて、以下の事が検討、知られている。

味噌では、熟成期間中に遊離のアミノ酸が増加することが知
られている。しかしながら、熟成期間は、一般的に米味噌で5
～12ヶ月、麦味噌1～12ヶ月、豆味噌5～20ヶ月であり、

大変長い期間が必要とされている（山内文男・大久保一良編：大豆の科学、朝倉書店）。

納豆では、一般的に発酵 20 時間以内に遊離のアミノ酸の増加が認められ、納豆 100 g（乾物）当たり、グルタミン酸、
5 ロイシン、アラニンは 400～600 mg となるが、他のアミノ酸の含量は 200 mg 以下である。また、総遊離アミノ酸含量は、納豆乾燥重量当たり約 5 重量％前後であることが報告されている（渡辺篤二：大豆食品、123、光琳）。

テンペにおいても、発酵中に遊離のアミノ酸が増加する（日本食品工学会誌，Vol137，No.2，130-138,1990）が、その増加
10 は、発酵 28 時間で、テンペ 100 g（乾物）当たり、グルタミン酸、プロリン、アラニンにおいて 200 mg 以上であるが、その他のアミノ酸は 100 mg 以下であり、総遊離アミノ酸含量としても、テンペ乾燥重量当たり約 1 重量％と非常に遊離の
15 アミノ酸の増加が低いことが知られている。

また、大豆及び大豆を使用した大豆発酵食品である味噌、納豆、テンペなどの γ -アミノ酪酸の増加方法においては、以下の事が検討されている。

味噌中には、 γ -アミノ酪酸は約 50 mg / 100 g（湿重量）
20 （日本醸造協会会誌，Vol192，No.9，689,1997）、また、納豆には γ -アミノ酪酸がほとんど含まれない（生物工学会誌，Vol175，No.4，239-244,1997）ことが知られており、また、テンペでは γ -アミノ酪酸の含有については未確認である。

そこで、味噌に関しては、 γ -アミノ酪酸を高濃度に含有する

味噌を開発するため、特開平 1 1 - 1 0 3 8 2 5 号公報では、麴菌、大豆、種水を混合し、 γ -アミノ酪酸への変換を促進させた後、食塩や酵母、乳酸菌等を添加し発酵させることにより、 γ -アミノ酪酸を顕著に増加させる方法が提案されている。

- 5 しかし、本方法では、 γ -アミノ酪酸含量が 1 1 2 m g / 1 0 0 g (湿重量) と低い等の問題点があった。

また、味噌中の γ -アミノ酪酸は、麴が関与していることが知られており、このことから、麴による γ -アミノ酪酸の増加方法も検討されている。

- 10 また、特開平 1 1 - 1 5 1 0 7 2 号公報では、大豆胚芽を含む大豆、大豆胚芽及び胚芽を除いた大豆の中の少なくとも 1 種又はそれらの脱脂物を使用し、これを水に浸漬することにより、大豆中の γ -アミノ酪酸を顕著に増加させる γ -アミノ酪酸を富化した大豆食品素材が提案されている。

- 15 しかし、本方法でも、 γ -アミノ酪酸含量が低い (約 1 2 0 m g / 1 0 0 g (湿重量)) 等の問題点を有していた。

- また、大豆を用いて γ -アミノ酪酸を富化させた食品素材においては、 γ -アミノ酪酸を同様に富化させたお茶、米の場合と比較して、生理活性効果が弱く、 γ -アミノ酪酸を富化させた
20 お茶と米のみがいろいろな生理活性を有する素材だと言われている。(Food style 21, Vol.5, No.5, 2001)

このように、従来、天然食品素材である大豆のみを原料として用い、発酵技術により γ -アミノ酪酸等の各種生理機能、呈味を有するアミノ酸を高濃度に含有し、且つ、大豆及び大豆発

酵産物由来の蛋白質、ペプチド、抗酸化成分、ビタミン類、ミネラル、イソフラボン等の有効成分も併有し、さらに血圧上昇抑制効果を有する大豆発酵食品は、未だ未開発の段階にある。

一方、大豆以外の穀物等についての γ -アミノ酪酸や遊離アミノ酸の増加の方法としては、お茶、米を用いた以下の方法が検討、開発されている。

(1) 茶葉を窒素や二酸化炭素ガスなどの嫌氣的条件下に置くことによって、グルタミン酸の減少に伴い γ -アミノ酪酸が増加する事が知られている。そこで、この方法を用い、現在ギャバロン茶として市販されている。しかしながら本方法では、茶葉を湯で抽出する際に γ -アミノ酪酸が希釈されてしまうため、大量に摂取する必要がある等の問題点を有していた。

(2) また、特開平 7-2 1 3 2 5 2 号公報、特開平 8-2 8 0 3 9 4 号公報、特開平 9-1 0 7 9 2 0 号公報、化学と生物 Vol 33, No.4, 1995 では、米胚芽等を水に浸漬することにより γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を顕著に増加する方法が開発されている。しかし、本方法では、米の約 3 % 程度である胚芽を大量に集める必要がある等の問題点を有していた。

(3) または、特開平 1 0-1 6 5 1 9 1 号公報、特開平 1 1-1 0 3 8 2 5 号公報、日本農芸化学会誌 Vol. 66, No. 8, 1 2 4 1-1 2 4 6, 1 9 9 2 では、麹菌、紅麹菌を用いて固体培養、液体培養を行い γ -アミノ酪酸を生産したり、又は麹菌破砕物を用いて γ -アミノ酪酸を生産する方法が提案されている。しかし、まず固体培養では、原料として米を用い、米

- 由来の天然食品素材の有効成分を含有しかつ γ -アミノ酪酸を含有した発酵食品が得られているが、 γ -アミノ酪酸含有量が低かったり（紅麹菌（Monascus pilosus）約60mg/100g dry、麹菌（Aspergillus oryzae）76mg/100g dry）、米以外の穀物、例えば、豆類（小豆、黒豆等）、種実類（ピーナッツ、ゴマ等）、麦類（大麦、小麦等）、雑穀（とうもろこし、そば、等）等に関しては、検討がなされていない。また、液体培養や麹菌破砕物を用いる方法では、グルタミン酸又はその塩を添加 γ -アミノ酪酸含量を高くしているが、そのため過剰のグルタミン酸が存在し、食品の味への影響や、殺菌等で加熱を行うことにより過剰のグルタミン酸と糖質がアミノカルボニル反応を起こし褐変してしまったり、他の天然の有効成分である蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の含量が低下する等の問題点を有していた。
- 15 以上のように、従来、天然食品素材である穀物のみを原料として用い、これを発酵技術により、 γ -アミノ酪酸を高濃度に含有し、かつ、穀物及び発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も併有する穀物発酵食品は、未だ未開発の段階にある。

20

発明の開示

本発明は、上記のごとき従来の問題点に鑑みてなされたもので、まず、本発明に係わる第1の発明は、天然食品素材である

- 大豆のみを原料として用い、これをテンペ菌により発酵をさせることにより、 γ -アミノ酪酸を高濃度に含有し、かつ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も併用する γ -アミノ酪酸高含有大豆発酵物の製造方法を提供することにその目的がある。

上記目的を達成するために、請求項 1 記載の発明に係わる γ -アミノ酪酸高含有大豆発酵食品の製造方法は、テンペ菌により大豆を発酵することにより γ -アミノ酪酸が高濃度に含有である大豆発酵食品を生産することを特徴とする。

- 10 また、請求項 2 記載の発明は、請求項 1 記載の発明において、上記テンペ菌が、Rhizopus 属であることを特徴とする。

また、請求項 3 記載の発明は、請求項 2 記載の発明において、上記 Rhizopus 属が、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae であることを特徴とする。

- 15 また、請求項 4 記載の発明は、請求項 1 記載の発明において、上記 γ -アミノ酪酸高含有大豆発酵食品は、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も併用することを特徴とする。

以下に本発明を詳細に説明する。

- 20 本発明は、本発見者らが、従来から食品の製造に用いられている微生物から、 γ -アミノ酪酸の生産する能力を有する微生物を検索した結果、インドネシアの伝統的な大豆発酵食品であるテンペに使用されている糸状菌の Rhizopus 属が、大豆を原料とした固体培地により発酵を行うことにより、 γ -アミノ酪

酸を大量に生産することを見出し、本発明を想到するに至ったものである。

本発明に用いる糸状菌は、Rhizopus 属であるが、前記のように γ -アミノ酪酸を生産する能力を有する Rhizopus 属であれば
5 全て使用することができる。例えば、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae、Rhizopus achlamydosporus、Rhizopus stolonifer などを挙げることができる。しかし、特に γ -アミノ酪酸の生産能力が高い Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae が望ましい。更には本糸状菌から誘導される変異株であ
10 って、前記のように γ -アミノ酪酸を生産しうる能力を有する糸状菌も等しく使用することができる。なお、前記に記述したように本発明に用いる Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae 等は、インドネシアで従来より食されている伝統的な大豆発酵食品であるテンペに使用されている糸状菌であり、安全性に問
15 題なく食品分野等に使用できる。

本発明に用いる糸状菌を培養するための培地は、当該菌が良く生育して目的とする γ -アミノ酪酸を生産しうるものが望ましい。

固体培養の原料としては、大豆を用い、大豆は、日本産、中国産、米国産、カナダ産等のいずれも使用できる。
20

まず大豆を酸性下で浸漬を行った後、排水、脱皮を行う。浸漬で使用する酸は、酢酸、クエン酸、乳酸、酒石酸等、食用の有機酸なら使用できる。酸の添加濃度は、Rhizopus 属の生育を阻害しない濃度が望ましく、例えば、酢酸であれば 0.2 .

0.5重量%が好ましい。また、浸漬処理後した大豆は、排水後に脱皮を行うが、原料中に大豆の外皮が残存しないことが望ましい。また、原料大豆に脱皮大豆を使用することにより、脱皮工程を省くことも可能である。続いて、浸漬大豆は、酸性液中で水煮及び圧力蒸煮を行うが、酸性液中で水煮の時間は、30～90分程度が望ましく、加圧蒸煮は、120℃、2～5分間圧力蒸煮することが望ましい。酸性液中で水煮及び圧力蒸煮した大豆は、冷却後、使用する。続いて蒸煮大豆に Rhizopus 属の孢子懸濁液、凍結乾燥菌体等を添加し、種菌として用いることができる。孢子懸濁液、凍結乾燥菌体等の種菌の添加量は、0.1～50重量%であるが、好ましくは0.5～3.0重量%とすることが望ましい。種菌を添加、混合し、これを表面に穴をあけたポリ袋に蒸煮大豆が厚さ1.5cm程度となるように充填したり、ステンレストレーに蒸煮大豆が厚さ1.5cm程度となるように充填する等で発酵を行うことができる。発酵条件としては、培養温度は、20～45℃であるが、好ましくは30～40℃である。また、培養湿度は、RH60%以上であるが、好ましくはRH80～98%である。初発のpHは、3.0～7.0であるが、好ましくは4.0～5.0とするのが望ましい。培養時間は、10～50時間であるが、好ましくは、15～30時間が望ましい。

上述の条件下でテンペ菌の培養を行うことにより、 γ -アミノ酪酸を高濃度に含有し、かつ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も逃さず含有する発

酵食品を得ることができる。

当該発酵食品は、そのままの形態でも利用可能であるが、加熱、乾熱、マイクロ波などで殺菌を行い、さらに粉碎後、ペースト状にしたり、必要に応じて凍結乾燥、風乾などの方法により乾燥を行い利用が可能である。

なお本発明の目的は、テンペ菌の Rhizopus 属により大豆を原料とした固体培地により発酵を行い、 γ -アミノ酪酸を高濃度に含有し、かつ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も併有する発酵食品を得ることを特徴とする製造法に関することであり、その利用方法はなんら限定されない。

次に、本発明に係わる第2の発明は、天然食品素材である大豆のみを原料として用い、テンペ菌の Rhizopus 属により大豆を発酵後、嫌気処理することにより γ -アミノ酪酸等の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、ペプチド、抗酸化成分、ビタミン類、ミネラル、イソフラボン、アンジオテンシン変換酵素阻害物質等の有効成分も併有し、血圧上昇抑制効果を有する γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品及びその製造方法を提供することにその目的がある。

上記目的を達成するために、請求項5記載の発明に係わる γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法及びその大豆発酵食品は、テンペ菌の Rhizopus 属による大豆発酵後、嫌気処理をすることにより γ -アミノ酪酸及び遊離ア

ミノ酸を高濃度に含有する大豆発酵食品を製造することを特徴とする。

- また、請求項 6 記載の発明は、請求項 5 記載の発明において、上記 Rhizopus 属が、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae であることを特徴とする。

また、請求項 7 記載の発明は、請求項 5 記載の発明において、上記嫌気処理において、大豆発酵物の仕込量 (g) / 密閉容器の体積 (cm³) が 0.005 ~ 1.0 g / cm³ であることを特徴とする。

- 10 また、請求項 8 記載の発明は、請求項 5 記載の発明において、上記嫌気処理において、酸素濃度を低減させ、酸素濃度が 1 % 以下となった状態で、嫌気処理時間が、 γ -アミノ酪酸富化では 30 分以上、遊離アミノ酸富化では 5 時間以上であることを特徴とする。

- 15 また、請求項 9 記載の発明は、請求項 5 記載の発明において、上記 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸において、 γ -アミノ酪酸が、大豆発酵物乾燥重量当たり 0.3 重量 % 以上含有、又は、遊離アミノ酸が、大豆発酵物乾燥重量当たり 5 重量 % 以上含有することを特徴とする

- 20 また、請求項 10 記載の発明は、請求項 5 記載の発明において、上記 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品は、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、ペプチド、ビタミン類、抗酸化成分、ミネラル、イソフラボン、アンジオテンシン変換酵素阻害物質等の有効成分も併有することを特徴とする。

また、請求項 1 1 記載の発明は、上記請求項 5 乃至請求項 1 0 記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法によって得られたことを特徴とする。

また、請求項 1 2 記載の発明は、請求項 1 1 記載の発明において、上記大豆発酵食品が、血圧上昇抑制効果を有することを特徴とする。

また、請求項 1 3 記載の発明は、請求項 1 1 記載の発明において、上記大豆発酵食品が、食品への機能性富化効果を有することを特徴とする。

10 以下、第 2 の発明を詳細に説明する。

本発明は、本発明者らが、従来から食品の製造に用いられている微生物から、 γ -アミノ酪酸を生産する能力を有する微生物を検索した結果、インドネシアの伝統的な大豆発酵食品であるテンペに使用されている糸状菌の Rhizopus 属が、大豆を原料とした固体培地により発酵を行うことにより、 γ -アミノ酪酸を大量に生産し、併せてリジン等の遊離のアミノ酸を大量に生産することを見出すことにより、本発明を想到するに至ったものである。

本発明に用いる糸状菌は、Rhizopus 属であるが、 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を生産する能力を有する Rhizopus 属であれば全て使用することができる。例えば、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae、Rhizopus achlamydosporus、Rhizopus stoloniferなどを挙げることができる。しかし、特に γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸の生産能力が高い Rhizopus

oligosporus、Rhizopus oryzaeが望ましい。更には本糸状菌から誘導される変異株であって、前記のように γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を生産しうる能力を有する糸状菌も等しく使用することができる。なお、前記に記述したように本発明に用

5 いる Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae等は、インドネシアで従来より食されている伝統的な大豆発酵食品であるテンペに使用されている糸状菌であり、安全性に問題なく食品分野等に使用できる。

本発明に用いる糸状菌を培養するための培地は、当該菌が良

10 く生育して目的とする γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を生産しうるものが望ましい。

固体培養の原料としては、大豆を用い、大豆は、日本産、中国産、米国産、カナダ産等のいずれも使用できる。また、大豆の形態としては、丸大豆、半割大豆、挽割大豆などを使用でき

15 る。

まず大豆を酸性下で浸漬を行った後、排水、脱皮を行う。浸漬で使用する酸は、酢酸、クエン酸、乳酸、酒石酸等、食用の有機酸なら使用できる。酸の添加濃度は、Rhizopus 属の生育を阻害しない濃度が望ましく、例えば、酢酸であれば0.2～

20 0.5重量%が好ましい。また、浸漬処理後した大豆は、排水後に脱皮を行うが、原料中に大豆の外皮が残存しないことが望ましい。また、原料大豆に脱皮大豆を使用することにより、脱皮工程を省くことも可能である。続いて、浸漬大豆は、酸性液中で水煮及び圧力蒸煮を行うが、酸性液中での水煮の時間は、

30～90分程度が望ましく、加圧蒸煮は、120℃、2～5分間圧力蒸煮することが望ましい。

酸性液中で水煮及び圧力蒸煮した大豆は、冷却後使用する。
この蒸煮大豆に Rhizopus 属の孢子懸濁液、凍結乾燥菌体等を
5 添加し、種菌として用いる。孢子懸濁液、凍結乾燥菌体等の種菌の添加量は、0.1～50重量%であるが、好ましくは0.5～3.0重量%である。

種菌を添加、混合し、これを表面に穴をあけたポリ袋に蒸煮大豆が厚さ1.5cm程度となるように充填したり、ステンレス
10 ストレーに蒸煮大豆が厚さ1.5cm程度となるように充填する等で発酵を行う。

発酵条件としては、培養温度は、20～45℃であるが、好ましくは30～40℃である。また、培養湿度は、RH60%以上であるが、好ましくはRH80～98%である。初発のpH
15 Hは、3.0～7.0であるが、好ましくは4.0～5.0である。培養時間は、10～50時間であるが、好ましくは、15～30時間である。

本発明では、発酵後、嫌気処理を行う。嫌気処理とは、原料である発酵物を嫌气的条件の下に一定期間おくことを意味し、
20 具体的には、発酵物を密閉容器に入れたり、密閉容器内を不活性ガスで置換したり、ポンプ等で吸引する処理をいう。

密閉容器内の初発酸素濃度は、大気中の酸素濃度である20.95%から開始しても菌自身の酸素消費及び炭酸ガス発生から嫌気状態となり、γ-アミノ酪酸などの遊離アミノ酸を増加

させることができる。

この反応を効果的に進めるためには、密閉容器内の大豆発酵物の仕込量を増加させると良い。仕込量が多いほど酸素消費量が多くなり嫌気状態への移行も速くなるからである。また、より効果的には、あらかじめ初発の酸素濃度を下げておくのがよく、短時間に γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を増加させることができる。

より好ましい嫌気処理条件は、大豆発酵物の仕込量 (g) / 密閉容器の体積 (cm^3) が、 $0.005 \sim 1.0 \text{ g} / \text{cm}^3$ であるが、例えば初期酸素濃度が 20.95% の場合、 $0.05 \text{ g} / \text{cm}^3$ 以上が好ましく、初発酸素濃度 0.1% といった低い場合は、 $0.01 \text{ g} / \text{cm}^3$ 以上が好ましい。

また、嫌気処理時間は、酸素濃度が 1% 以下となった状態で、 γ -アミノ酪酸富化では 30 分以上、遊離アミノ酸富化では 5 時間以上が望ましく、長時間程好ましい。また、嫌気処理温度は、 $5 \sim 50^\circ\text{C}$ であるが、好ましくは $25 \sim 40^\circ\text{C}$ である。初発の pH は、 $3.0 \sim 7.0$ であるが、好ましくは $4.0 \sim 6.0$ とするのが望ましい。初発の pH を酸性側におくのは、 γ -アミノ酪酸や遊離アミノ酸を生合成するグルタミン酸脱炭酸酵素やプロテアーゼの至的 pH は酸性側にあるためである。

上述の条件下でテンペ菌の培養を行うことにより、血圧上昇抑制効果を有する成分と言われている γ -アミノ酪酸、リジン、アルギニン、チロシン、メチオニン等のアミノ酸、イソフラボン、カリウム、アンジオテンシン変換酵素阻害物質等を含育し、

且つ、各種生理機能・呈味を有するその他の遊離アミノ酸を高濃度に含有し、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、ペプチド、ビタミン類、抗酸化成分、ミネラル、等の有効成分も併有する大豆発酵食品を得ることができる。

5 当該発酵食品は、そのままの形態でも利用可能であるが、加熱、乾熱、マイクロ波などで殺菌を行い、さらに粉碎後、ペースト状にしたり、水溶性成分を抽出したりして利用できる。また、必要に応じて凍結乾燥、風乾などの方法により乾燥して利用することもできる。

10 また、当該発酵食品は、そのままの形態でも食することができるが、当該発酵食品の粉末、エキス、ペースト等を各種食品に添加することにより、当該発酵食品の有する上記各種機能性成分を容易に各種食品に富化することができる。

15 なお、本発明の目的は、テンペ菌の Rhizopus 属により大豆を原料とした固体培地により発酵後、嫌気処理を行い、 γ -アミノ酪酸等の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、ペプチド、ビタミン類、抗酸化成分、ミネラル、イソフラボン等の有効成分も併有し、血圧上昇抑制効果を有する大豆発酵食品及び
20 その製造方法に関するものであり、利用方法を何ら限定するものではない。

次に、本発明に係わる第3の発明は、天然食品素材である穀物のみを原料として用い、これを麹菌により穀物を発酵、及び、その後嫌気処理することにより γ -アミノ酪酸、バリン、イソ

ロイシン、リジン等の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、穀物由来のビタミン類、アントシアニン、セサミン、イソフラボン、大豆サポニン、フィチン酸、食物繊維、ミネラル、抗酸化成分、及び、穀物発酵産物由来の

5 蛋白質分解物、ペプチド、抗酸化成分等の有効成分も併有することを特徴とするγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法を提供することにその目的がある。

上記目的を達成するために、請求項 1 4 記載の発明に係わるγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方

10 法は、麴菌により穀物を発酵することによりγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸が高濃度に含有する穀物発酵食品を製造することを特徴とする。

また、請求項 1 5 記載の発明は、麴菌により穀物発酵後、嫌気処理することによりγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸が高濃度

15 に含有する穀物発酵食品を製造することを特徴とする。

また、請求項 1 6 記載の発明は、請求項 1 4、1 5 記載の発明において、上記麴菌が Rhizopus 属であることを特徴とする。

また、請求項 1 7 記載の発明は、請求項 1 4、1 5 記載の発明において上記 Rhizopus 属が、Rhizopus oligosporus、

20 Rhizopus oryzaeであることを特徴とする。

また、請求項 1 8 記載の発明は、請求項 1 4、1 5 記載の発明において上記麴菌が Aspergillus 属であることを特徴とする。

また、請求項 1 9 記載の発明は、請求項 1 4、1 5 記載の発明において上記 Aspergillus 属が、Aspergillus oryzae、

Aspergillus nigerであることを特徴とする。

- また、請求項 20 記載の発明は、請求項 14、15 記載の発明において、上記 γ -アミノ酪酸及び遊離のアミノ酸は、総含量として穀物発酵物乾燥重量当たり 1 重量 % 以上含有することを特徴とする。

また、請求項 21 記載の発明は、請求項 14、15 記載の発明において、 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の穀物は、豆類、種実類、麦類、雑穀を原料として製造することを特徴とする。

- 10 また、請求項 22 記載の発明は、請求項 14、15 記載の発明において、 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の穀物は、穀物精製時に生じる残渣であるふすま、ぬか、胚芽部のみ、または、これら残渣を含む全粒を用いることを特徴とする。

- 15 以下に第 3 の発明を詳細に説明する。

本発明は、本発明者らが、従来から食品の製造に用いられている微生物から、 γ -アミノ酪酸等の遊離アミノ酸を生産する能力を有する微生物を検索した結果、麹菌が穀物を原料とした固体培地により発酵を行うことにより、 γ -アミノ酪酸等の遊離アミノ酸を大量に生産することを見出し、本発明を想到するに至ったものである。

本発明に用いる麹菌は、 γ -アミノ酪酸等の遊離アミノ酸を生産する能力を有する麹菌であれば使用でき、特に、Rhizopus 属、Aspergillus 属、Penicillium 属、Mucor 属、Monascus 属

- に属する微生物で、従来より発酵食品として使用されており安全性に問題なく食品分野等に使用できる麹菌であれば全て使用することができる。例えば、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae、Rhizopus achlamydosporus、Rhizopus stolonifer、
- 5 Aspergillus oryzae、Aspergillus niger、Aspergillus kawachi、Aspergillus glaucus、Aspergillus sojae、Aspergillus tamarii、Penicillium chrysogenum、Penicillium roquefortii、Penicillium camembertii、Penicillium citrinum、Mucor silvaticus、Monascus purpureus、などを挙げるができる。
- 10 しかし、特に γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸の生産能力が高い Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzae、Aspergillus oryzae、Aspergillus niger が望ましい。更には麹菌から誘導される変異株であって、上記のように γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を生産しうる能力を有する麹菌も等しく使用すること
- 15 ができる。

本発明に用いる麹菌を培養するための培地は、当該菌が良く生育して目的とする γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を生産しうるものが望ましい。

- 固体発酵に用いる穀物は、豆類（小豆、黒豆、枝豆、グリーン
- 20 ピース、いんげん、えんどう等）、種実類（ピーナッツ、ゴマ、アーモンド、くるみ等）、麦類（大麦、小麦、えん麦、はと麦）、雑穀（とうもろこし、そば、あわ、きび、ひえ）を言い、また、これらの胚芽、糠、ふすま等の可食部のいずれも使用できる。

原料である穀物は吸水後、加熱を行う。例えば、乾燥豆類（小

- 豆、黒豆等)は酸性下で浸漬を行い水戻した後使用する。大麦、小麦、あわ、きび等の澱粉質の穀物は水浸漬を行い、吸水後、加熱を行う。また、水分を多く含む穀物(生鮮品、調理済み原料、冷凍品等)は、吸水を必要とせず、加熱のみを行う。加熱、
- 5 殺菌は酸性液中で加熱を行うが、酸性液中で加熱時間は、30～90分程度が望ましい。加圧加熱は、120℃、2～15分間圧力加熱することが望ましい。酸性液中で加熱した穀物は、冷却後、使用する。

- 続いて加熱した穀物に米麴の孢子懸濁液、凍結乾燥菌体等を
- 10 添加し、種菌として用いることができる。孢子懸濁液、凍結乾燥菌体等の種菌の添加量は、0.1～50重量%であるが、好ましくは0.5～3.0重量%とすることが望ましい。

- 種菌を添加、混合し、これを表面に穴をあけたポリ袋に加熱穀物が厚さ1.5cm程度となるように充填したり、ステンレ
- 15 ストレー、フラスコ等の容器に加熱穀物が厚さ1.5cm程度となるように充填する等で発酵を行うことができる。

- 発酵条件としては、培養温度は、20～45℃であるが、好ましくは30～40℃である。また、培養湿度は、RH60%以上であるが、好ましくはRH80～98%である。初発のp
- 20 Hは、3.0～7.0であるが、好ましくは4.0～5.0とするのが望ましい。培養時間は、10～50時間であるが、好ましくは、15～30時間が望ましい。

本発明では、発酵後、嫌気処理を行う。嫌気処理とは、原料である発酵物を嫌气的条件の下に一定期間おくことを意味し、

具体的には発酵物を密閉容器に入れたり、密閉容器内を不活性ガスで置換したり、真空ポンプ等で吸引する処理をいう。

密閉容器内の初発酸素濃度は、大気中の酸素濃度である20.95%から開始しても菌自身の酸素消費及び炭酸ガス発生から嫌気状態となり、 γ -アミノ酪酸等の遊離アミノ酸を増加させることができる。

この反応を効果的に進めるためには、密閉容器内の穀物発酵物の仕込量を増加させるとよい。仕込量が多いほど酸素消費量が多くなり嫌気状態への移行も速くなるからである。また、より効率的には、あらかじめ初発の酸素濃度を下げておくのがよく、短期間に γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を増加させることができる。

より好ましい嫌気処理条件は、穀物発酵物の仕込量(g)/密閉容器の体積(cm^3)が、 $0.005 \sim 1.0 \text{ g/cm}^3$ であるが、例えば初期酸素濃度が20.95%の場合、 0.05 g/cm^3 以上が好ましく、初発酸素濃度0.1%といった低い場合は、 0.01 g/cm^3 以上が好ましい。

また、嫌気処理時間は、酸素濃度が1%以下となった状態で、 γ -アミノ酪酸富化では30分以上、遊離アミノ酸富化では5時間以上が望ましく、長時間程好ましい。また、嫌気処理温度は、 $5 \sim 50^\circ\text{C}$ であるが、好ましくは $25 \sim 40^\circ\text{C}$ である。初発のpHは、 $3.0 \sim 7.0$ であるが、好ましくは $4.0 \sim 6.0$ とするのが望ましい。初発のpHを酸性側におくのは、 γ -アミノ酪酸や遊離アミノ酸を生合成するグルタミン酸脱炭酸

酵素やプロテアーゼの至適 pH は酸性側にあるためである。なお、上述の方法により発酵及び嫌気処理を行った場合、嫌気処理を行うと嫌気処理をする前の γ -アミノ酪酸含量は 0.01 重量%以上であり、0.1 重量%以上のこともあるが、嫌気処理を行うと 0.1 重量%以上の高濃度となる。同様に、嫌気処理する前の遊離アミノ酸含量は 0.1 重量%以上であり、1 重量%以上のこともあるが、嫌気処理を行うと 1 重量%以上の高濃度となる。

上述の条件下で麹菌の培養を行うことにより、 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、穀物由来の有効成分、例えば、小豆、黒豆、枝豆、ピーナッツ、ゴマ、アーモンド、そば、あわ、胚芽、糠等が含有するビタミン B 群、黒豆、アーモンド、ピーナッツ、胚芽等が含有するビタミン E、小豆、黒豆等が含有するアントシアニン、ゴマが含有するセサミン、黒豆等が含有するイソフラボン、大豆サポニン、糠、胚芽、ふすま等が含有するフィチン酸、小豆、黒豆、枝豆、ゴマ、大麦、小麦、えん麦、はと麦、あわ、ひえ、胚芽、糠、ふすま等が含有する食物繊維、ミネラル、抗酸化成分、及び、穀物発酵産物由来の蛋白質分解物、ペプチド、抗酸化成分等の有効成分も併有する発酵食品を得ることができる。

当該発酵食品は、そのままの形態でも利用可能であるが、加熱、乾熱、マイクロ波などで殺菌を行い、さらに粉碎後、ペースト状にしたり、水溶性成分を抽出したりして利用できる。また、必要に応じて凍結乾燥、風乾などの方法により乾燥を行う

ことによりその利用が可能である。

なお、本発明は、麴菌により穀物を原料とした固体培地により発酵し、その後、嫌気処理を行い、 γ -アミノ酪酸等の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有する発
5 酵食品の製造方法に関するものであり、その利用方法はなんら限定されない。

図面の簡単な説明

図 1 は、本発明の第 2 の発明における大豆発酵食品の血圧上
10 昇抑制効果を示す実験結果を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施の実態を具体的な実施例に基づいて説明
15 する。

なお、以下の実施例において、実施例 1 ～実施例 4 は本発明の第 1 の発明に対応する実施例である。

<実施例 1>

脱皮大豆 100 g を 0.2 % 酢酸溶液 300 ml に 12 時間
20 浸漬し、120℃、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の孢子懸濁液 1 重量%を添加し、混合した。これを表面に穴をあけたポリ袋に蒸煮大豆が厚さ 1.5 cm 程度となるように充填した後に、37℃で 20 時間培養を行った。培養終了後、凍結乾燥を行い、

得られた凍結乾燥品を精秤し、8%トリクロロ酢酸で γ -アミノ酪酸を抽出した。

抽出した γ -アミノ酪酸量は、アミノ酸自動分析機を用いて測定した。その結果、表1に示す通りに、 γ -アミノ酪酸量が
5 高く、大豆発酵物中に217 mg / 100 g dryの γ -アミノ酪酸を生成した。

【表1】 大豆発酵物中の γ -アミノ酪酸含量

| | 大豆発酵物中の γ -アミノ酪酸含量 |
|------------------------------------|------------------------------|
| γ -アミノ酪酸含量 (mg / 100 g dry) | 217 |

10 <実施例2>

Rhizopus oligosporus IF08631で調製した大豆発酵物、市販
の大豆発酵食品である納豆（市販納豆）、味噌（市販味噌）、テ
ンペ（市販テンペ）及び蒸煮大豆の γ -アミノ酪酸量の比較を
行った。各サンプルの γ -アミノ酪酸量は、実施例1の方法に
15 従いアミノ酸自動分析機にて測定した。その結果、表2に示す
通りに、Rhizopus oligosporus IF08631で調製した大豆発酵物
において、最も γ -アミノ酪酸量が高かった。

【表2】 各種大豆発酵食品中の γ -アミノ酪酸含量の比較

| | γ -アミノ酪酸 (mg / 100 g dry) |
|-------|----------------------------------|
| 大豆発酵物 | 217 |
| 市販納豆 | 30 |
| 市販味噌 | 36 |
| 市販テンペ | 12 |
| 蒸煮大豆 | 26 |

<実施例 3>

脱皮大豆 100 g を 0.2 % 酢酸溶液 300 ml に 12 時間浸漬し、120 °C、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に各種 Rhizopus 属の菌株の孢子懸濁液 1 重量 % を添加し、混合した。これを実施例 1 の通りに発酵し、各種 Rhizopus 属の菌株の大豆発酵物を調製した。また、各サンプルの γ -アミノ酪酸量は、実施例 1 の方法に従いアミノ酸自動分析機にて測定した。その結果、表 3 に示す通りに、各種 Rhizopus 属の菌株において、 γ -アミノ酪酸生産能が認められた。

【表 3】 各種 Rhizopus 属の γ -アミノ酪酸生産

| | γ -アミノ酪酸含量 (mg/100g dry) |
|---|------------------------------------|
| <u>Rhizopus oligosporus</u> IF08631 | 217 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF04705 | 143 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF05438 | 101 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF05780 (<u>Rhizopus arrhizus</u>) | 66 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF04770 (<u>Rhizopus achlamydosporus</u>) | 102 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF04732 (<u>Rhizopus formosaensis</u>) | 65 |
| <u>Rhizopus stolonifer</u> IF06188 | 43 |

<実施例 4>

15 脱皮大豆 100 g を実施例 1 に従い、浸漬、蒸煮し、蒸煮大豆を調製し、続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の孢子懸濁液を 1 重量 % 添加し、混合、37 °C、20 時間培養

を行った。培養終了後、凍結乾燥を行った。得られた凍結乾燥品を用い、実施例 1 に従い γ -アミノ酪酸量をアミノ酸自動分析機を用いて測定した。また抗酸化成分であるスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様活性を和光純薬製の SOD テスト

5 ワコー (NBT 還元法) により測定を行った。同時に比較として、納豆の γ -アミノ酪酸量及び SOD 様活性の測定を行った。その結果、表 4 に示す通りに、Rhizopus oligosporus IF08631 による大豆発酵物 (調製大豆発酵物) は、納豆と比較し、 γ -アミノ酪酸量及び SOD 様活性が高かった。

10

【表 4】 Rhizopus oligosporus IF08631 調製大豆発酵物の γ -アミノ酪酸量及び SOD 様活性

| | γ -アミノ酪酸量 (mg/100g dry) | SOD 活性 (阻害率%) |
|--|-----------------------------------|------------------|
| <u>Rhizopus oligosporus</u> IF08631 調製大豆発酵物 | 217 | 51 |
| 納豆 | 36 | 24 |

次に、本発明の第 2 の発明に対応する実施例を、実施例 5 ～

15 実施例 13 に基づいて説明する。

<実施例 5>

脱皮大豆 100g を 0.2% 酢酸溶液 300ml に 12 時間浸漬し、120℃、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の孢子懸濁液 1

20 重量%を添加し、混合した。これを表面に穴をあけたポリ袋に

蒸煮大豆が厚さ 1.5 cm 程度となるように充填した後に、37℃で17.5時間培養を行った。培養終了後、100ml容の密閉容器に発酵物30gを入れ、窒素置換を充分行い、37℃、10時間嫌気処理を行った。嫌気処理終了後、凍結乾燥
 5 を行い、得られた凍結乾燥品を精秤し、8%トリクロロ酢酸でγ-アミノ酪酸等のアミノ酸を抽出した。抽出した各種アミノ酸は、アミノ酸自動分析機を用いて測定した。

その結果、表5に示す通りに、総遊離アミノ酸含量7.6乾燥重量%、γ-アミノ酪酸量523mg/100gである大豆発
 10 酵物を得た。

【表5】 大豆発酵物中のγ-アミノ酪酸及び各種アミノ含量

| | 大豆発酵物中の含量 |
|--------------------------|-----------|
| 総遊離アミノ酸量 (乾燥重量%) | 7.6 |
| 各種アミノ酸量 (mg/100g dry) | |
| γ-アミノ酪酸 | 523 |
| バリン | 280 |
| イソロイシン | 272 |
| ヒスチジン | 250 |
| リジン | 506 |
| フェニルアラニン | 289 |
| スレオニン | 284 |
| アルギニン | 372 |
| グルタミン | 451 |
| グルタミン酸 | 788 |
| チロシン | 284 |
| アラニン | 1270 |

<実施例6>

Rhizopus oligosporus IF08631 で調製した大豆発酵物、市販
 の大豆発酵食品である納豆（市販納豆）、味噌（市販味噌）、テ
 ンペ（市販テンペ）及び蒸煮大豆の γ -アミノ酪酸量の比較を
 行った。各サンプルの γ -アミノ酪酸量は、実施例 5 の方法に
 5 従いアミノ酸自動分析機にて測定した。その結果、表 6 に示す
 通りに、Rhizopus oligosporus IF08631 で調製した大豆発酵物
 において、最も γ -アミノ酪酸量が高かった。

【表 6】 各種大豆発酵食品中の γ -アミノ酪酸含量の比較

| | γ -アミノ酪酸 (mg/100g dry) |
|-------|----------------------------------|
| 大豆発酵物 | 523 |
| 市販納豆 | 30 |
| 市販味噌 | 36 |
| 市販テンペ | 12 |
| 蒸煮大豆 | 26 |

10

<実施例 7>

脱皮大豆 100g を 0.2% 酢酸溶液 300ml に 12 時間
 浸漬し、120℃、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続い
 て蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の菌株の孢子懸
 濁液 1 重量% を添加し、混合した。これを実施例 5 の通りに発
 15 酵し、大豆発酵物を調製した。培養終了後、100ml 容の密
 閉容器に発酵物 30g を入れ、窒素置換を行った後、37℃で
 各時間嫌気処理を行った。各サンプルの γ -アミノ酪酸及び遊
 離アミノ酸量は、実施例 5 の方法に従いアミノ酸自動分析機に
 20 て測定した。その結果、表 7 に示す通りに、嫌気処理時間と共

に γ -アミノ酪酸及び各種アミノ酸含量の顕著な増加が認められた。

【表 7】 各嫌気処理時間での大豆発酵物中の γ -アミノ酪酸

5 及び各種アミノ酸含量

| | 10 時間嫌気 | 20 時間嫌気 | 50 時間嫌気 |
|--------------------------|---------|---------|---------|
| 総遊離アミノ酸量 (乾燥重量%) | 7.6 | 12.2 | 16.0 |
| 各種アミノ酸量 (mg/100g dry) | | | |
| γ -アミノ酪酸 | 523 | 629 | 673 |
| バリン | 280 | 527 | 762 |
| イソロイシン | 272 | 529 | 780 |
| ヒスチジン | 250 | 396 | 491 |
| リジン | 506 | 1026 | 1250 |
| フェニルアラニン | 289 | 589 | 740 |
| スレオニン | 284 | 549 | 696 |
| アルギニン | 372 | 381 | 447 |
| グルタミン | 451 | 366 | 692 |
| グルタミン酸 | 788 | 1182 | 1931 |
| チロシン | 284 | 450 | 470 |
| アラニン | 1270 | 1568 | 1611 |

<実施例 8>

- 脱皮大豆 100 g を 0.2 % 酢酸溶液 300 ml に 12 時間浸漬し、120℃、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に各種 Rhizopus 属の菌株の孢子懸濁液 1 重量%を添加し、混合した。これを実施例 5 の通りに 30℃にて 20～22 時間発酵後、20 時間嫌気処理を行い、各種 Rhizopus 属の菌株の大豆発酵物を調製した。各サンプルの γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸量は、実施例 5 の方法に従いアミノ酸自動分

析機にて測定した。その結果、表 8 に示す通りに、各種 Rhizopus 属の菌株において、 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を高濃度に含む大豆発酵物が得られた。

【表 8】 各種 Rhizopus 属の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸

5 製造

| | γ -アミノ酪酸含量 (mg/100 g dry) | 遊離アミノ酸含量 (乾燥重量%) |
|--|-------------------------------------|---------------------|
| <u>Rhizopus oligosporus</u> IF08631 | 6 2 9 | 1 2 . 2 |
| <u>Rhizopus oligosporus</u> IF031987 | 8 1 9 | 9 . 8 |
| <u>Rhizopus oligosporus</u> IF032002 | 1 8 9 1 | 1 2 . 7 |
| <u>Rhizopus oligosporus</u> IF032003 | 1 7 3 5 | 1 2 . 2 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF04705 | 8 1 8 | 9 . 4 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF05438 | 7 9 7 | 9 . 0 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF09364 | 6 2 1 | 1 0 . 7 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF05780 (<u>Rhizopus arrhizus</u>) | 4 2 4 | 8 . 5 |
| <u>Rhizopus oryzae</u> IF04770 (<u>Rhizopus</u> <u>achlamydosporus</u>) | 5 2 0 | 9 . 3 |

<実施例 9>

脱皮大豆 1 0 0 g を 0 . 2 % 酢酸溶液 3 0 0 m l に 1 2 時間浸漬し、1 2 0 °C、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の菌株の孢子懸

濁液 1 重量 % を添加し、混合した。これを実施例 5 の通りに 37 °C、20 時間の発酵を行った後、1 L 容密閉容器内に発酵物 5 g を入れ、各種ガスで嫌気処理を行った。また、真空ポンプでの吸引による嫌気処理では、デシケーター中に発酵物 100 g を入れ、各真空度に調節した後、室温にて嫌気処理を行った。各サンプルの γ -アミノ酪酸量は、実施例 5 の方法に従いアミノ酸自動分析機にて測定した。その結果、表 9 に示す通りに、各種ガス及び真空ポンプでの吸引による嫌気処理により γ -アミノ酪酸の顕著な増加が認められた。

10 【表 9】 各種嫌気処理における大豆発酵物中の γ -アミノ酪酸含量

| 処理方法 | γ -アミノ酪酸含量 (mg/100g dry) |
|------------------|------------------------------------|
| 窒素置換、20 時間処理 | 6 2 9 |
| 二酸化炭素置換、20 時間処理 | 5 4 3 |
| アルゴン置換、20 時間処理 | 8 1 9 |
| 密閉、20 時間処理 | 1 8 4 |
| 空気、20 時間処理 | 7 1 |
| 真空 90torr、5 時間処理 | 5 8 4 |
| 真空 10torr、5 時間処理 | 4 5 4 |

<実施例 10>

15 脱皮大豆 100 g を 0.2 % 酢酸溶液 300 ml に 12 時間浸漬し、120 °C、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の菌株の孢子懸濁液 1 重量 % を添加し、混合した。これを実施例 5 の通りに 20 時間発酵を行った後、密閉容器体積当たり的大豆発酵物仕込量を変え、各初発酸素濃度により嫌気処理 5 時間行い大豆発酵

物を調製した。各サンプルの γ -アミノ酪酸量は、実施例 5 の方法に従いアミノ酸自動分析機にて測定した。その結果、表 10 に示す通りに、密閉容器への大豆発酵物の仕込量が多く、かつ初期酸素濃度が低いほど、効果的に γ -アミノ酪酸を高濃度に含有する大豆発酵物が得られた。

【表 10】 密閉容器体積当たり的大豆発酵物の仕込量 (g) の影響

| 初発酸素濃度 (%) | 大豆発酵物の仕込量 (g) / 密閉容器体積 (cm ³) | γ -アミノ酪酸含量 (mg/100g dry) |
|------------|---|---------------------------------|
| 20.9 | 0.16 | 481 |
| 20.9 | 0.05 | 462 |
| 20.9 | 0.01 | 174 |
| 1.0 | 0.16 | 512 |
| 1.0 | 0.05 | 483 |
| 1.0 | 0.01 | 356 |

10 <実施例 11>

脱皮大豆 100g を 0.2% 酢酸溶液 300ml に 12 時間浸漬し、120℃、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の菌株の孢子懸濁液 1 重量% を添加し、混合した。これを実施例 5 の通りに 20 時間発酵を行った後、100ml 密閉容器に発酵物 50g を仕込み、酸素濃度を 1% 以下とし、各時間嫌気処理を行い大豆発酵物を調製した。各サンプルの γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸量は、実施例 5 の方法に従いアミノ酸自動分析機にて測定した。その結果、表 11 に示す通りに、 γ -アミノ酪酸は、嫌気処理時間 30 分以上で 300mg/100g dry 以上、遊離

アミノ酸は、嫌気処理 5 時間以上で、5 乾燥重量 % 以上となった。

【表 1 1】 酸素濃度 1 % 以下条件における嫌気処理時間の影響

| 嫌気処理時間 (h r) | γ -アミノ酪酸 (mg/100g dry) | 遊離アミノ酸 (乾燥重量 %) |
|--------------|----------------------------------|--------------------|
| 0.5 | 306 | 2.4 |
| 1.0 | 321 | 2.7 |
| 3.0 | 393 | 3.3 |
| 5.0 | 506 | 5.1 |

<実施例 1 2>

脱皮大豆 100 g を 0.2 % 酢酸溶液 300 ml に 12 時間浸漬し、120 °C、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF08631 の菌株の孢子懸濁液 1 重量 % を添加し、混合した。これを実施例 5 の通りに発酵 20 時間、嫌気処理 20 時間を行い、大豆発酵物を調製した。調製した大豆発酵物について、ドラムドライ乾燥を行い、得られた粉末品について、遊離アミノ酸分析、ビタミン類、ミネラル、抗酸化成分：スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様活性、イソフラボン、アンジオテンシン (ACE) 阻害活性について測定を行った。その結果、表 1 2 に示す通りに、調製大豆発酵物は、 γ -アミノ酪酸量及び遊離アミノ酸を高濃度に含み、且つ、大豆及び大豆発酵産物由来の抗酸化成分、イソフラボン、ビタミン類、ミネラル等の有効成分も含有していた。

【表 1 2】 Rhizopus oligosporus IF08631 調製大豆発酵物の
有効成分

| | | | |
|---------------------------|-----------|------------------------|------------|
| 遊離アミノ酸含量 (乾燥重量%) | 1 2 . 2 | ビタミン類 (mg/100g dry) | |
| 各種アミノ酸含量 (mg/100g dry) | | ビタミン B 1 | 0 . 2 3 |
| γ-アミノ酪酸 | 6 2 9 | ビタミン B 2 | 1 . 4 6 |
| バリン | 5 2 7 | ビタミン B 6 | 1 . 0 3 |
| イソロイシン | 5 2 9 | イノシトール | 4 1 7 |
| ヒスチジン | 3 9 6 | コリン | 1 6 0 |
| リジン | 1 0 2 6 | 葉酸 | 0 . 1 4 |
| フェニルアラニン | 5 8 9 | | |
| スレオニン | 5 4 9 | ミネラル (mg/100g dry) | |
| アルギニン | 3 8 1 | カリウム | 1 0 1 0 |
| グルタミン | 3 6 6 | マグネシウム | 1 7 6 |
| グルタミン酸 | 1 1 8 2 | リン | 5 3 9 |
| チロシン | 4 5 0 | 鉄 | 5 . 4 |
| アラニン | 1 5 6 8 | カルシウム | 2 0 9 |
| | | 亜鉛 | 3 . 9 |
| イソフラボン (mg/100g dry) | 1 5 3 . 8 | 銅 | 1 . 1 |
| | | S O D 阻害活性 (阻害率%) | 2 2 |
| | | A C E 阻害活性 (阻害率%) | 4 0 |

< 実施例 1 3 >

- 5 脱皮大豆 1 0 0 g を 0 . 2 % 酢酸溶液 3 0 0 m l に 1 2 時間浸漬し、1 2 0 °C、5 分間蒸煮し、蒸煮大豆を調製した。続いて蒸煮大豆に Rhizopus oligosporus IF032002 の菌株の孢子懸濁液 1 重量% を添加し、混合した。これを実施例 5 の通りに発酵 2 0 時間、嫌気処理 2 0 時間を行い、大豆発酵物を調製した。

- その結果、 $1,268 \text{ mg} / 100 \text{ g dry}$ の γ -アミノ酪酸を含有する大豆発酵物が調製できた。調製した大豆発酵物について、ドラムドライ乾燥を行い、得られた粉末品について、表13に示す飼料に0.1重量%の割合で添加し、本飼料を用いた
- 5 自然発症高血圧ラット（SHR）での血圧上昇抑制試験を行った。各飼料をそれぞれ11週令のSHR6頭に蒸留水と共に自由摂取させ、8週間飼育し、週1回血圧測定を行った。その結果、図1に示すごとく、大豆発酵物を添加していない群と比較し、大豆発酵物0.1重量%添加飼料において際だった血圧上
- 10 昇抑制効果が認められた。

【表13】 飼料組成

| | 対照群 | 0.1%大豆発酵物 添加群 |
|-------------|-------|------------------|
| カゼイン (%) | 22.00 | 21.95 |
| ラード (%) | 10.00 | 9.97 |
| ミネラル混合物 (%) | 3.50 | 3.50 |
| ビタミン混合物 (%) | 1.20 | 1.20 |
| 塩化コリン (%) | 0.15 | 0.15 |
| セルロース (%) | 3.00 | 3.00 |
| 塩化ナトリウム (%) | 1.00 | 1.00 |
| スクロース (%) | 59.15 | 59.13 |
| 大豆発酵物 (%) | | 0.10 |

- 15 次に、本発明の第3の発明に対応する実施例を、実施例14、実施例15に基づいて説明する。

<実施例14>

各種穀類について γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を高濃度に含有する穀物発酵品を調製した。市販乾燥豆（小豆、黒豆、うずら豆、金時豆、大納言）を0.5%酢酸液に15時間浸漬し、水切りした。水切り後、黒豆、うずら豆、大納言は半切し、

5 小豆、金時豆はそのまま100ml容三角フラスコに20g入れた。枝豆、グリーンピース、いんげん、えんどう、とうもろこしは冷凍品を用い、枝豆は半切、いんげん、えんどうは5mm幅にさやごと切り、100ml容三角フラスコに20g入れた。白ゴマ、黒ゴマ、粉末ピーナッツ、小麦胚芽、小麦ふすま、大豆胚芽、米糠は、100ml容三角フラスコに10g入れ、水を試料量と等量加えて用いた。各種穀物を入れた100ml容三角フラスコを121℃、10分間加熱殺菌及び蒸煮を行った。この蒸煮穀物に Rhizopus oligosporus IF032002 孢子懸濁液を1重量%加え、37℃、湿度90%条件下で20時間培養を行

10 った。培養終了後、100ml容の密閉容器に発酵物を入れ、窒素置換を充分行い、37℃、20時間嫌気処理を行った。嫌気処理終了後、凍結乾燥を行い、得られた凍結乾燥品を精秤し、8%トリクロロ酢酸で γ -アミノ酪酸等のアミノ酸を抽出した。抽出した各種アミノ酸は、アミノ酸自動分析機を用いて測定し

15 20 た。

その結果、表14に示す通りに、 γ -アミノ酪酸量100mg/100g dry以上である穀物発酵物を得た。

また、表15に示すとおりに、総遊離アミノ酸含量1000mg/100g dry以上である穀物発酵物を得た。

【表 1 4】

Rhizopus oligosporus IF032002 による各種発酵穀物の γ -
アミノ酪酸含量 (mg/100g dry)

| | 発酵 20 時間後 | 嫌気 20 時間後 |
|---------|-----------|-----------|
| 枝豆 | 3 5 0 | 6 3 7 |
| グリーンピース | 1 7 4 | 4 2 4 |
| インゲン | 1 6 8 | 3 3 7 |
| えんどう | 5 4 7 | 5 8 8 |
| 小豆 | 4 3 | 1 2 8 |
| 黒豆 | 2 5 2 | 5 7 3 |
| うずら豆 | 1 2 9 | 2 5 9 |
| 金時豆 | 1 1 6 | 2 2 2 |
| 大納言 | 4 0 | 1 2 9 |
| 白ゴマ | 7 3 | 1 5 9 |
| 黒ゴマ | 3 3 | 1 1 9 |
| とうもろこし | 5 3 | 1 3 3 |
| 粉末ピーナッツ | 6 0 | 1 2 3 |
| 小麦胚芽 | 1 4 0 | 2 4 2 |
| 小麦ふすま | 1 3 3 | 4 3 6 |
| 大豆胚芽 | 3 2 2 | 1 3 5 3 |
| 米糠 | 6 3 | 2 4 0 |

5 【表 1 5】

Rhizopus oligosporus IF032002 による各種発酵穀物の総遊
離アミノ酸含量 (mg/100g dry)

| | 発酵 20 時間 後 | 嫌気 20 時間後 |
|---------|---------------|-----------|
| 枝豆 | 1 9 1 9 | 1 3 3 5 5 |
| グリーンピース | 2 4 0 5 | 1 1 1 6 2 |
| インゲン | 1 7 9 7 | 6 6 5 1 |
| えんどう | 1 4 0 9 7 | 1 6 9 6 2 |
| 小豆 | 5 0 5 | 1 9 5 4 |
| 黒豆 | 1 3 6 3 | 1 0 2 1 7 |
| うずら豆 | 9 1 4 | 4 2 9 1 |
| 金時豆 | 1 0 0 5 | 2 9 6 3 |

| | | |
|---------|---------|-----------|
| 大納言 | 4 7 0 | 2 0 8 0 |
| 白ゴマ | 4 6 1 | 2 6 9 7 |
| 黒ゴマ | 3 5 9 | 2 5 0 3 |
| とうもろこし | 7 8 0 | 1 7 5 0 |
| 粉末ピーナッツ | 7 8 0 | 5 4 7 0 |
| 小麦胚芽 | 1 0 2 9 | 3 2 6 4 |
| 小麦ふすま | 8 3 5 | 6 9 0 6 |
| 大豆胚芽 | 3 7 7 3 | 1 9 2 9 0 |
| 米糠 | 5 5 8 | 3 2 2 9 |

<実施例 15>

とうもろこしについて γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を高濃度に含有する穀物発酵品を調製した。市販冷凍とうもろこしを 100 ml 容三角フラスコに 20 g 入れた。試料を入れた 100 ml 容三角フラスコを 121℃、10 分間加熱殺菌及び蒸煮を行い、この蒸煮穀物に市販米麹粉末 *Aspergillus oryzae* を 1 重量% 加え、37℃、湿度 90% 条件下で 48 時間培養を行った。培養終了後、100 ml 容の密閉容器に発酵物を入れ、窒素置換を充分行い、37℃、20 時間嫌気処理を行った。嫌気処理終了後、凍結乾燥を行い、得られた凍結乾燥品を精秤し、8% トリクロロ酢酸で γ -アミノ酪酸等のアミノ酸を抽出した。抽出した各種アミノ酸は、アミノ酸自動分析機を用いて測定した。

その結果、表 16 に示す通りに、 γ -アミノ酪酸量 100 mg / 100 g dry 以上である穀物発酵物を得た。

また、表 16 に示すとおりに、総遊離アミノ酸含量 1000 mg / 100 g dry 以上である穀物発酵物を得た。

【表 16】

Aspergillus oryzae による発酵とうもろこし中の γ -アミノ酪酸及び総遊離アミノ酸含量 (mg/100g dry)

| | 発酵 48 時間後 | 嫌気 20 時間後 |
|-----------------|-----------|-----------|
| γ -アミノ酪酸 | 17 | 116 |
| 総遊離アミノ酸 | 359 | 1883 |

5 産業上の利用可能性

以上説明したように、第1の発明では、天然食品素材である大豆のみを原料として用い、これをテンペ菌の Rhizopus 属により発酵をさせることにより、 γ -アミノ酪酸を高濃度に含有し、かつ、大豆及び発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も併有する大豆発酵食品を得ることができる等の効果を奏する。これによって、食品分野において品質的ならびに価格的に優れたこの種製品の利用が可能となる。

また、第2の発明では、天然食品素材である大豆のみを原料として用い、これをテンペ菌の Rhizopus 属により大豆を発酵後、嫌気処理することにより γ -アミノ酪酸等の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、ペプチド、抗酸化成分、ビタミン類、ミネラル、イソフラボン等の有効成分も併有し、さらに血圧上昇抑制効果を有する大豆発酵食品を得ることができる等の効果を奏する。これによって、食品分野において品質的ならびに価格的に優れたこの種の製品の利用が可能となる。

また、第3の発明では、天然食品素材である穀物のみを原料

- として用い、これを麹菌により穀物を発酵し、その後、嫌気処理することにより γ -アミノ酪酸の各種生理機能、呈味を有する遊離アミノ酸を高濃度に含有し、且つ、穀物由来のビタミン類、アントシアニン、セサミン、イソフラボン、大豆サポニン、
- 5 フィチン酸、食物繊維、ミネラル、抗酸化成分、及び、穀物発酵産物由来の蛋白質分解物、ペプチド、抗酸化成分等の有効成分も併有する穀物発酵食品を得ることができる等の効果を奏する。これによって、食品分野において品質的ならびに価格的に優れたこの種の製品の利用が可能となる。

請求の範囲

1. テンペ菌により大豆を発酵することによりγ-アミノ酪酸を高濃度に含有である大豆発酵食品を生産することを特徴とするγ-アミノ酪酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

2. 上記テンペ菌が、Rhizopus属であることを特徴とする請求項1に記載のγ-アミノ酪酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

3. 上記 Rhizopus 属が、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzaeであることを特徴とする請求項2に記載のγ-アミノ酪酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

4. 上記γ-アミノ酪酸高含有大豆発酵食品は、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、アミノ酸、抗酸化成分等の有効成分も併用することを特徴とするγ-アミノ酪酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

5. テンペ菌の Rhizopus 属による大豆発酵後、嫌気処理をすることによりγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸を高濃度に含有する大豆発酵食品を製造することを特徴とするγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

6. 上記 Rhizopus 属が、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzaeであることを特徴とする請求項5に記載のγ-アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品及びその製造方法。

7. 上記嫌気処理において、大豆発酵物の仕込量 (g) / 密閉容器の体積 (cm³) が 0.005 ~ 1.0 g/cm³ である

ことを特徴とする請求項 5 に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

8. 上記嫌気処理において、酸素濃度を低減させ、酸素濃度が 1 % 以下となった状態で、嫌気処理時間が、 γ -アミノ酪酸富化では 30 分以上、遊離アミノ酸富化では 5 時間以上であることを特徴とする請求項 5 に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

9. 上記 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸において、 γ -アミノ酪酸が、大豆発酵物乾燥重量あたりに 0.3 重量%以上含有、又は、遊離アミノ酸が、大豆発酵物乾燥重量あたりに総含量として 5 重量%以上含有することを特徴とする請求項 5 に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

10. 上記 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品は、大豆及び大豆発酵産物由来の蛋白質、ペプチド、ビタミン類、抗酸化成分、ミネラル、イソフラボン、アンジオテンシン変換酵素阻害物質等の有効成分も併有することを特徴とする請求項 5 に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法。

20 11. 上記請求項 5 乃至請求項 10 に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有大豆発酵食品の製造方法によって得られたことを特徴とする大豆発酵食品。

12. 上記大豆発酵食品が、血圧上昇抑制効果を有することを特徴とする請求項 11 に記載の大豆発酵食品。

13. 上記大豆発酵食品が、食品への機能性富化効果を有することを特徴とする請求項1記載の大豆発酵食品。

14. 麹菌により穀物を発酵することにより γ -アミノ酪酸及び遊離のアミノ酸を高濃度に含有する穀物発酵食品を製造することを特徴とする γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

15. 麹菌により穀物発酵後、嫌気処理をすることにより γ -アミノ酪酸及び遊離のアミノ酸を高濃度に含有する穀物発酵食品を製造することを特徴とする γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

16. 上記麹菌が Rhizopus 属であることを特徴とする請求項14、15に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

17. 上記 Rhizopus 属が、Rhizopus oligosporus、Rhizopus oryzaeであることを特徴とする請求項14、15に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

18. 上記麹菌が Aspergillus 属であることを特徴とする請求項14、15に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

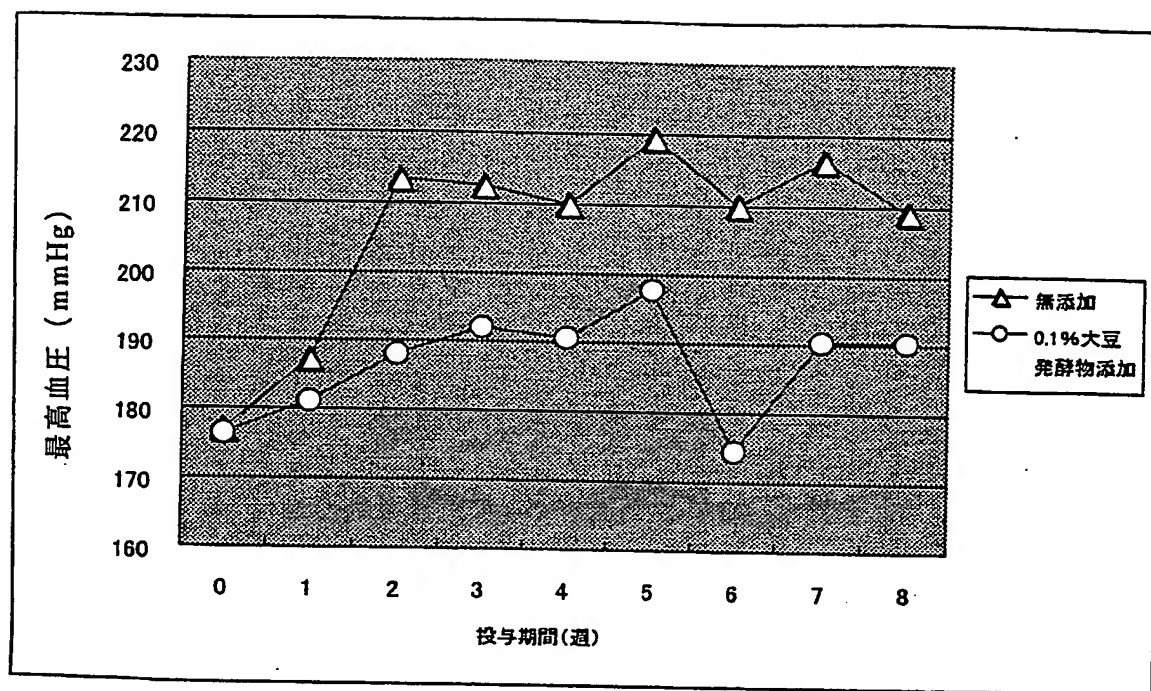
19. 上記 Aspergillus 属が、Aspergillus oryzae、Aspergillus nigerであることを特徴とする請求項14、15に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

20. 上記 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸は、総含量として穀物発酵物乾燥重量当たり1重量%以上含有することを特徴とする請求項14、15に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

- 5 21. 上記 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の穀物は、豆類、種実類、麦類、雑穀であることを特徴とする請求項14、15に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の製造方法。

- 10 22. 上記 γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の穀物は、穀物精製時に生じる残渣であるふすま、糠、胚芽部のみ、または、これら残渣を含む全粒を用いることを特徴とする請求項14、15に記載の γ -アミノ酪酸及び遊離アミノ酸高含有穀物発酵食品の記載の製造方法。

図 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/04640

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁷ A23L1/20, A23L1/202, A23L1/29

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁷ A23L1/20, A23L1/202, A23L1/29

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|----------------------------|
| X Y | JP 11-103825 A (Tochigi Ken), 20 April, 1999 (20.04.99) (Family: none) | 1-4, 14, 16-22 5-13, 15 |
| X | JP 11-123060 A (Nakano Sumise), 11 May, 1999 (11.05.99) (Family: none) | 14, 16-22 |
| X | JP 11-225696 A (Ikeda Shokken), 24 August, 1999 (24.08.99) (Family: none) | 1-22 |
| X | JP 10-165191 A (Kiku Masumune Shuzo), 23 June, 1998 (23.06.98) (Family: none) | 14, 16-22 |
| X | Oita-ken Nounsuisanbutsu Kakou Sougou Shidou Center ed., "Nounsuisanbutsu no Kakou ni kansuru Shiken Kenkyuu Seiseki-shuu", Vol. I (Kokurui, Mamerui ni kansuru Shiken Kenkyuu Seiseki), February, 1997, pages 70 to 72 | 1-4, 14, 16-22 |
| X Y | Okayama-ken Kogyo Gijutsu Center ed., "Tennen Sozai no Kou-fuka Kachi-ka Gijutsu no Kaihatsu, Chapter VI, Biseibutsu Henkan ni yoru Shokuhin Kanren Shigen no Yuukou Riyo Gijutsu no Kaihatsu", Chushou Kigyouchou, October, 1999, pages VI-33 to VI-35 | 15, 20-22 1-14, 16-19 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

| | |
|---|--|
| * Special categories of cited documents: | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | |

Date of the actual completion of the international search
21 August, 2001 (21.08.01)

Date of mailing of the international search report
04 September, 2001 (04.09.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO1/04640

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ A23L1/20, A23L1/202, A23L1/29

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ A23L1/20, A23L1/202, A23L1/29

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使った電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|----------------------------|
| X Y | JP 11-103825 A (TOCHIGI KEN) 20. 4月. 1999 (20. 04. 99) (ファミリーなし) | 1-4, 14, 16-22 5-13, 15 |
| X | JP 11-123060 A (NAKANO SUMISE) 11. 5月. 1999 (11. 05. 99) (ファミリーなし) | 14, 16-22 |
| X | JP 11-225696 A (IKEDA SHOKKEN) 24. 8月. 1999 (24. 08. 99) (ファミリーなし) | 1-22 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に関する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21. 08. 01

国際調査報告の発送日

04.09.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 肇

4B

3037

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

| C (続き). 関連すると認められる文献 | | |
|----------------------|--|----------------------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| X | JP 10-165191 A (KIKU MASAMUNE SHUZO) 23.6月.1998(23.06.98) (ファミリーなし) | 14, 16-22 |
| X | 大分県農水産物加工総合指導センター編、農水産物の加工に関する試験研究 成績集 I 巻 (穀類・豆類に関する試験研究成績), 2月. 1997 pages 70-72 | 1-4, 14, 16-22 |
| <u>X</u> Y | 岡山県工業技術センター編、天然素材の高付加価値化技術の開発 第VI章 微生物変換による食品関連資源の有効利用技術の開発, 中小企業庁, 10月. 1999, pages VI-33~VI-35 | <u>15, 20-22</u> 1-14, 16-19. |